

平成 21 年 6 月 1 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2006～2008

課題番号：18770071

研究課題名 (和文) シャジクモ藻類 *Nitella* 属の全系統関係の解明研究課題名 (英文) Phylogenetic relationships among almost all species of *Nitella* (Characeae, Charales)

研究代表者

坂山 英俊 (SAKAYAMA HIDETOSHI)

東京大学・大学院総合文化研究科・助教

研究者番号：60391108

研究成果の概要：シャジクモ藻類 *Nitella* 属は世界中に広く分布し、大部分は特異な形態や生態を示す地域固有種である。本研究で世界中から多くの重要な種を採集し、分子系統解析によってそれらの系統関係を調査した結果、*Nitella* 属は単系統群（共通祖先から派生した種をすべて含むグループ）ではなく、従来の分類体系は実際の系統関係と大きく矛盾していることが明らかになった。本研究の結果に基づいて従来の分類体系の矛盾点を修正し、その成果の一部を国際誌および学会で発表し、新分類体系構築への方向性を示した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,500,000	0	1,500,000
2007 年度	1,400,000	0	1,400,000
2008 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	210,000	3,810,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生物多様性・分類

キーワード：分類体系

1. 研究開始当初の背景

シャジクモ藻類（淡水に生息する大型藻類）は世界中に広く分布しており、その大部分は特異な形態や生態を示す地域固有種であるので海外フィールド調査が必要不可欠である。シャジクモ藻類の分類体系（Wood 1965）は、近年の分子系統学的研究によって全ての属間の系統関係は支持されたが、各属内の系統関係は多くの点で矛盾していることが報告されている (McCourt et al. 1999; Meiers et al. 1999; Sakayama et al. 2005)。従って、各属内の全ての重要な種を網羅した

分子系統解析を実施して Wood (1965) の分類体系の改訂を行う必要がある。さらに、全系統関係を解明することによってシャジクモ藻類の形質や生態的特徴の進化・多様化のプロセスを正確に理解することが可能となる。

2. 研究の目的

本研究課題では申請者らの研究 (Sakayama et al. 2002, 2004, 2005) によって分類学的研究基盤が最も整っている *Nitella* 属に焦点を絞り、ほぼ全ての重要な種を収集して属全体の系統関係を明らかにする。具体的には、

Nitella 属全 49 種のうち 11 種は既に McCourt et al. (1999) と Sakayama et al. (2002, 2004, 2005) によって研究されているので、本研究では残りの 38 種中、日本固有種 2 種、ヨーロッパ固有種 1 種、オーストラリア・ニュージーランド固有種 16 種、北中米固有種 2 種（合計 21 の固有種）を新たに採集する。そして、現地でのフィールド調査が困難であるアフリカ固有の 2 節を除く全ての 13 節と、全種数の約 60% (32 種) をカバーした分子系統解析を実施する。

3. 研究の方法

材料収集のため、国内および海外（オーストラリア、ニュージーランド、ドイツ、アルゼンチン）におけるフィールド調査を実施した。オーストラリア・ニュージーランドのフィールド調査は Wood (1972) および Van Raam (1995) の分布情報を参考にして行った。また、海外共同研究者（1 名）からも適時アドバイスを受けながら効率よく調査を行うよう努めた。採集予定種のほとんどはオーストラリア国内に広く分布しているため、過去の分布情報通りに発見できない場合も想定して各種毎に 2-3 地点ずつ調査した。ニュージーランドにはオーストラリアと共通する種が多く生息しているため、オーストラリアで発見できなかった種を含めて重点的に調査した。また、ニュージーランド固有種が 1 種あり、現地の共同研究者と打合せを行い確実に採集した。ドイツでは目的の材料は 1 種のみであるため現地の共同研究者と打合せを行い、調査地点を厳選して確実に採集した。アルゼンチンでは海外共同研究者（1 名）から適時アドバイスを受け、効率よく調査を行い、固有種を確実に採集した。日本国内の調査は Imahori (1954) の分布情報を参考にして目的の材料を採集した。採集品の一部は 70% エタノールおよびシリカゲルで固定し DNA 抽出時まで保存した。また、形態同定のためのさく葉標本と液浸標本も作成した。サンプルが未成熟の場合は同定が困難なため、実験室内で培養して成熟個体を得た。標本および培養株を用いて成熟個体の葉状体と卵胞子の詳細な形態的特徴を記録した。Sakayama et al. (2005) が用いた方法に従って、採集した材料から DNA を抽出し、PCR 法により分子マーカーを増幅し塩基配列を決定した。新たに採集した材料と McCourt et al. (1999) と Sakayama et al. (2002, 2004, 2005) が報告した 11 種の遺伝子塩基配列を用いて分子系統樹を構築して種間の系統関係を推定した。

4. 研究成果

Nitella 属は主軸に分枝した枝を輪生し、枝の節部または基部に雌雄の生殖器官をもつ（図 1）。その中で輪生枝の先端部（最終

枝）および受精にともなって形成される卵胞子の形態は特に多様である。*Nitella* 属はおもに栄養器官形態に基づいて 3 亜属・15 節・49 種に分類されている (Wood 1965)。これまでに 12 節・22 種 (44%) まで解析が完了し、*Nitella* 属は単系統群（共通祖先から派生した種をすべて含むグループ）ではないことが明らかになった。また、従来の 3 亜属 (*Nitella*, *Hyella*, *Tieffallenia*) も全て単系統にはならず、大部分の節や種も多系統であった。従って、Wood (1965) が重要な分類形質として用いた栄養器官形態は系統的に保存的ではなく、Wood (1965) の亜属・節・種レベルの分類体系を大幅に再編成する必要性が示された。分子系統解析の結果では、*Nitella* 属は大きく 8 つの系統群からなり、それらはおもに卵胞子形態で特徴づけられることが示唆された。これらの分子と形態のデータに基づき従来の分類体系 (Wood 1965) の矛盾点を修正した成果の一部は、専門家が最も多く参加する第 5 回シャジクモ研究グループ国際シンポジウムにおいて発表し、新分類体系構築への方向性を示すことができた。また、本研究の最終成果は国際誌に投稿準備中である。

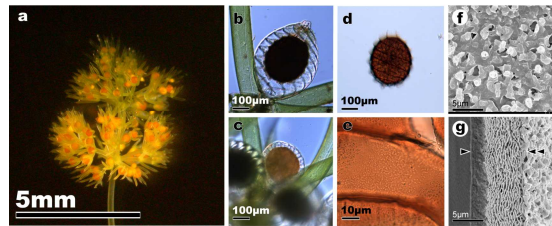


図 1. *Nitella* 属の形態。

a. 葉状体；b. 生卵器；c. 造卵器；d. 卵胞子；e. 卵胞子壁表面構造(LM)；f. 卵胞子壁表面構造(SEM)；g. 卵胞子壁断面構造(SEM)

引用文献

- Imahori K. 1954. *Ecology, phytoecology and taxonomy of the Japanese Charophyta*. Kanazawa University Press, Kanazawa. 234 pp.
- McCourt R.M., Karol K.G., Casanova M.T. & Feist M. 1999. Monophyly of genera and species of Characeae based on *rbcL* sequences, with special reference to Australian and European *Lychnothamnus barbatus* (Characeae: Charophyceae). *Australian Journal of Botany* 47: 361–369.
- Meiers S.T., Proctor V.W. & Chapman R.L. 1999. Phylogeny and biogeography of *Chara* (Chlorophyta) inferred from 18S rDNA sequences. *Australian Journal of Botany* 47: 347–360.

- Sakayama H., Hara Y. & Nozaki H. 2004. Taxonomic re-examination of six species of *Nitella* (Charales, Charophyceae) from Asia, and phylogenetic relationships within the genus based on *rbcl* and *atpB* gene sequences. *Phycologia* 43: 91-104.
- Sakayama H., Miyaji K., Nagumo T., Kato M., Hara Y. & Nozaki H. 2005. Taxonomic re-examination of 17 species of *Nitella* subgenus *Tieffallenia* (Charales, Charophyceae) based on internal morphology of the oospore wall and multiple DNA marker sequences. *Journal of Phycology* 41: 195-211.
- Sakayama H., Nozaki H., Kasaki H. & Hara Y. 2002. Taxonomic re-examination of *Nitella* (Charales, Charophyceae) from Japan, based on microscopical studies of oospore wall ornamentation and *rbcl* gene sequences. *Phycologia* 41: 397-408.
- Van Raam J.C. 1995. The Characeae of Tasmania. In: *Nova Hedwigia*, Beiheft 110, J. Cramer, Berlin. 50 pp.
- Wood R.D. 1965. Monograph of the Characeae. In: *A revision of the Characeae* (Ed. by R.D. Wood & K. Imahori), vol. 1. J. Cramer, Weinheim. 904 pp.
- Wood R.D. 1972. Characeae of Australia. *Nova Hedwigia* 22: 1-120.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5件)

- Sakayama, H., Kasai, F., Kawachi, M., Watanabe, M. M., Nozaki, H., Nishihiro, J., Washitani, I., Shigyo, M., Krienitz, L. & Ito, M. Taxonomic reexamination of *Chara globularis* (Charales, Charophyceae) from Japan based on oospore morphology and *rbcl* gene sequences, and the description of *C. leptospora* sp. nov. *Journal of Phycology* (In press), 査読あり
- Sakayama, H. Taxonomy of *Nitella* (Charales, Charophyceae) based on comparative morphology of oospores and multiple DNA marker phylogeny using cultured material. *Phycological Research* 56: 202-215 (2008), 査読あり
- Kato, S., Sakayama, H., Sano, S., Kasai, F., Watanabe, M. M., Tanaka, J. & Nozaki, H. Morphological variation and intraspecific phylogeny of the ubiquitous species *Chara braunii*

(Charales, Charophyceae) in Japan. *Phycologia* 47: 191-202 (2008), 査読あり

Higa, A., Kasai, F., Kawachi, M., Kumano, S., Sakayama, H., Miyashita, M. & Watanabe, M. M. Seasonality of gametophyte occurrence, maturation and fertilization of the freshwater red alga *Thorea okadae* (Thoreales, Rhodophyta) in the Kikuchi River, Japan. *Phycologia* 46: 160-167 (2007), 査読あり

Sakayama, H., Arai, S., Nozaki, H., Kasai, F. & Watanabe, M. M. Morphology, molecular phylogeny and taxonomy of *Nitella comptonii* (Charales, Characeae). *Phycologia* 45: 417-421 (2006), 査読あり

[学会発表](計 18件)

- 加藤 将・坂山英俊・森嶋秀治・佐野郷美・大森雄治・加藤信重・伊藤元己・笠井文絵・渡辺 信・野崎久義. 青森県の鷹架沼で発見された日本新産シャジクモ類の1種について. 日本植物分類学会第8回大会, 仙台(宮城県民会館), 3月13日(2009).
- 坂山英俊・伊藤元己. シャジクモ類における *LEAFY* 遺伝子ホモログの単離. 日本藻類学会第33回大会, 沖縄(琉球大学), 3月28日(2009).
- 佐藤真知子・坂山英俊・関本弘之・伊藤元己. シャジクモ (*Chara braunii*) の生殖器官形成の解析. 日本藻類学会第33回大会, 沖縄(琉球大学) 3月27日(2009).
- 笠井文絵・平林周一・坂山英俊・野崎久義・石本美和・宮地和幸・加藤 将・佐野郷美・森嶋秀治・大森雄治・樋口澄男・久米 修・松重一夫・須戸 幹・白岩善博・渡邊 信. 絶滅危惧種であるシャジクモ類の生育と水質および周辺環境の影響について. 日本藻類学会第33回大会, 沖縄(琉球大学), 3月27日(2009).
- García, A., Sakayama, H., Nozaki, H., Ito, M. & Chivas, A. Taxonomy of species of *Nitella* subgenus *Tieffallenia* and subgenus *Hyella*: phylogeny based on *rbcl* gene sequences and oospore morphology. 第5回シャジクモ研究グループ国際シンポジウム, ドイツ(ロストック大学), 9月25日(2008).
- Sakayama, H., García, A., Chivas, A., Nozaki, H. & Ito, M. Taxonomy and phylogeny of the extant genus *Nitella*. 第5回シャジクモ研究グループ国際シンポジウム, ドイツ(ロストック大学), 9月26日(2008).
- 笠井文絵・坂山英俊・野崎久義・石本美和・平林周一・宮地和幸・加藤将・佐野郷美・

森嶋秀治・大森雄治・樋口澄男・久米修・松重一夫・須戸幹・白岩善博・渡邊信．日本の池沼におけるシャジクモ類の衰退香川県のため池を例として．日本植物学会第72回大会，高知（高知大学），9月26日（2008）．

佐藤真知子・坂山英俊・関本弘之・伊藤元己．シャジクモ（*Chara braunii*）における生卵器形成抑制現象の解析．日本植物学会第72回大会，高知（高知大学），9月26日（2008）．

坂山英俊．車軸藻とは．第3回車軸藻シンポジウム，市川（市川教育会館），5月24日（2008）．

坂山英俊．保全生物学とDNAバーコーディング：シャジクモ類を例に．日本生態学会55回大会，福岡（福岡国際会議場），3月14日（2008）．

坂山英俊・Adriana García・野崎久義・伊藤元己．シャジクモ類フラスコモ（*Nitella*）属の系統関係と形態進化．日本植物分類学会第7回大会，東京（首都大学東京），3月21日（2008）．

加藤将・坂山英俊・三沢計治・佐野郷美・笠井文絵・渡邊信・田中次郎・野崎久義．複数の核DNA領域による日本産 *Chara braunii*（シャジクモ目）の種内解析．日本植物分類学会第7回大会，東京（首都大学東京），3月21，22日（2008）．

坂山英俊・野崎久義・笠井文絵・渡辺 信・伊藤元己．日本産カタシャジクモの分類学的再検討．日本藻類学会第32回大会，東京（東京海洋大学），3月23日（2008）．

坂山英俊・Adriana García・野崎久義・伊藤元己．シャジクモ藻類フラスコモ属の全系統関係の解明に向けて．日本植物学会第71回大会，野田（東京理科大学），9月8日（2007）．

Kato, S., Sakayama, H., Misawa, K., Sano, S., Kasai, F., Watanabe, M. M., Tanaka, J. & Nozaki, H. 2007. Analyses of the ubiquitous species *Chara braunii* (Charales) in Japan, based on the morphology, chloroplast and nuclear DNA sequences. アメリカ藻類学会第61回大会，Crowne Plaza Hotel in Providence Warwick, Rhode Island, USA，8月8日（2007）．

坂山英俊．車軸藻とは．第2回車軸藻シンポジウム，長野（信濃町公民館野尻湖支館），7月21日（2007）．

坂山英俊・Adriana García・野崎久義・伊藤元己．シャジクモ藻類フラスコモ属の全系統関係の解明（I）．日本藻類学会第31回大会，神戸（神戸大学），3月24日（2007）．

坂山英俊．車軸藻類の分類と生態．日

本植物学会第70回大会，熊本（熊本大学），9月15日（2006）．

〔図書〕（計 6件）

坂山英俊．14. 4. 陸上植物の進化．図説生物学（仮）（図説生物学編集委員会編）．東京大学出版会（印刷中）（分担執筆）．

坂山英俊．シャジクモ科（15種を担当）．環境省版レッドリスト付属説明資料．植物II（維管束植物以外）．財団法人自然環境研究センター（印刷中）（分担執筆）．

青木誠志郎、浅島 誠、池内昌彦、石井直方、坂山英俊、他24名．基礎生命科学実験、第2版（DVDつき，東京大学教養学部基礎生命科学実験編集委員会編）．東京大学出版会，205pp．2009（分担執筆）．

坂山英俊．シャジクモ科（全22種を担当）．牧野新日本植物図鑑．pp. 1197-1202．北隆館．2008（改訂・分担執筆）．

青木誠志郎・浅島 誠・池内昌彦・石井直方、坂山英俊、他19名．基礎生命科学実験（DVDつき，東京大学教養学部基礎生命科学実験編集委員会編）．東京大学出版会，205pp．2007（分担執筆）．

大森雄治、笠井文絵、加藤 将、坂山英俊、他6名．冊子“しゃじくも” - 車軸藻類の保全をめざして - （シャジクモ調査グループ編）．国立環境研究所，8pp．2006（分担執筆）．

〔その他〕
ホームページ等
しゃじくも - 車軸藻類の保全を目指して -
<http://www.nies.go.jp/biology/mcc/Chara2006/chara-index.htm>

6．研究組織
(1)研究代表者
坂山 英俊（SAKAYAMA HIDETOSHI）
東京大学・大学院総合文化研究科・助教
研究者番号：60391108

(2)研究分担者

該当なし

(3)連携研究者

該当なし